

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
分担研究総括報告書
生殖補助医療の安全性に関する研究

分担研究者 寺尾俊彦 浜松医科大学医学部附属病院長

A. 研究目的

多胎を減少させ、かつ生殖補助医療がより安全に施行されるようになることを目的とする。具体的には、低体重児出産や生殖補助医療に関わる医原病の発生防止、また、それによるわが国の保険行政医療の負担軽減、そして、社会的に数々の問題を残す減数手術の根絶等を目的とする。

B. 研究方法

①多胎の種類別出産動向調査、および②双胎の卵性動向；1951～1968年と1974～1997年における日本全国の人口動態統計から得られた多胎出産（出生と死産）資料を用いて分析した。

③一般排卵誘発治療における単一卵胞発育法の開発；（1）FSH/GnRH pulse 療法のさらなるフィールドトライアルを施行した。

（2）FSH 療法；fixed dose 法とstep down 法、低用量step up 法を症例を追加して比較した。

④生殖補助医療における最大の合併症である卵巣過剰刺激症候群（OHSS）の発生動向調査；鳥取大学における体外受精・胚移植のために排卵誘発を行なった136例、392周期を対象に、解析した。

⑤OHSS の発症防止に関する研究；（1）OHSS の発症抑制に関して、文献的研究を施

行した。また、OHSS 発症機序に関する動物実験を施行した。

C. 研究結果と考察

①1997年の多胎の種類別出産動向（次ページ図参照）；双胎 [出産千対] 9.0（1996年：8.9）、三胎 [出産百万対] 258.28（1996年：257.61）、四胎以上 [出産百万対] 13.0（1996年：7.22）であった。四胎以上の緩やかな増加については、これらの多胎発生が増加しているためか、減数手術施行件数が減少したためかは今回の調査からは判定不能である。

②双胎の卵性動向；1997年以前では一卵性が二卵性より多いが、以降は逆転現象を示し二卵性が一卵性より多くなっていた。これは生殖補助医療の影響が色濃く出始めた徴候と思われる。

③一般排卵誘発治療における単一卵胞発育法の開発；（1）FSH/GnRH pulse 療法；単一卵胞発育に有効であり多胎の発生を低下させることができた。（2）低用量FSH step up 法が多胎・副作用防止に最も有効であった。

（1）の方法は保険収載が未だなされていないため、臨床の現場においては低用量FSH step up 法が第一選択となる。ただし、流産率がやや多いことが問題点として残っている。

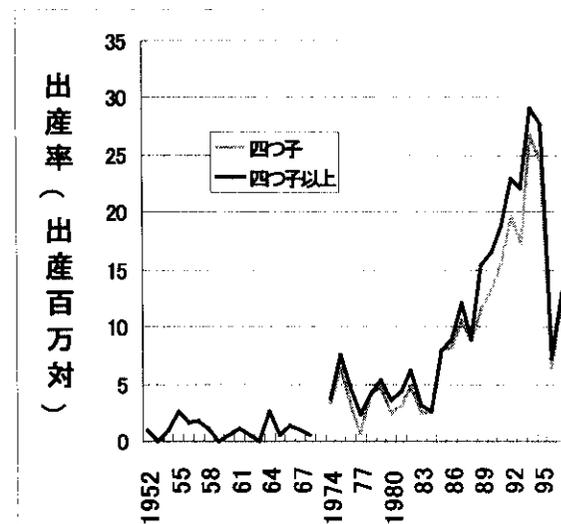
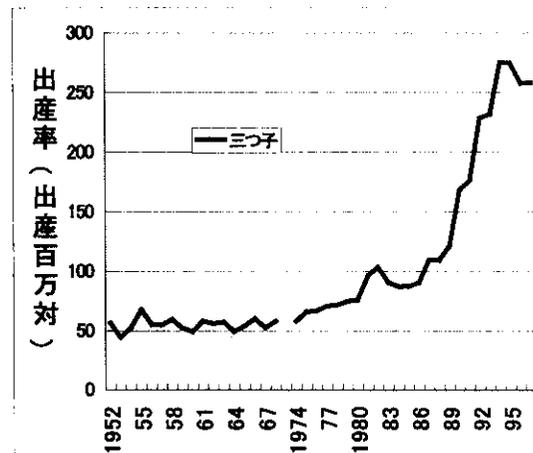
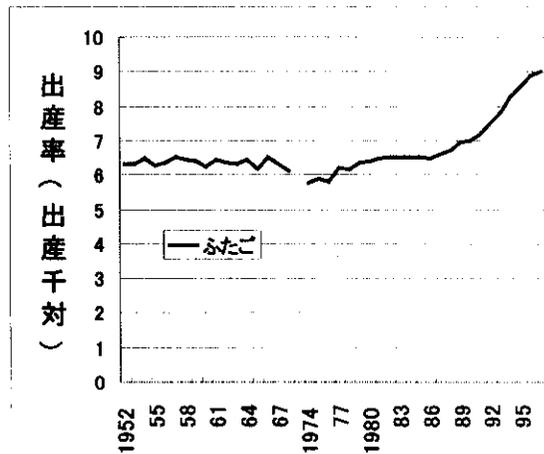
④OHSS の発生動向調査；日母分類（1996年）を基準としたOHSSの発生頻度は、30%

であった。内訳は軽症 53%，中等症 38%，重症 9%，最重症 0%であった。発生周期と非発生周期では，ヒト閉経後ゴナドトロピン (hMG) の投与総量では差を認めなかったが，発育卵・卵胞数や血中エストラジオール値は，前者において有意に増加していた。体外受精・胚移植における OHSS の発生は約 3 人にひとりと高率で，大きな問題と思われた。またその発生は，hMG の投与総量以外の因子が大きく関わっていると思われる。

⑤OHSS の抑制に関する文献的研究，および OHSS 発症機序に関する動物実験；(1) 文献的研究：最近 33 年間の欧米および日本における主たる医学雑誌において，原因因子を制御する試みが 8 文献報告されていた。しかし有効性に関してはいまだ確立されておらず，臨床応用されるまでには至っていなかった。(2) IL-8 投与による OHSS 様卵胞腫大の惹起に関する研究：未熟 rat に対し，過剰卵胞刺激を施行し，その 48 時間後に IL-8 20 μ g を腹腔内投与した。その結果 OHSS 様の卵胞腫大が認められた。血管構築標本でも，著明に拡張した密な卵胞血管網，および血管からの樹脂の漏出が認められた。IL-8 の制御により，OHSS の発症を抑制できる可能性が示唆された。

D. 結論

1997 年の多胎出生は，双胎から四胎以上まですべて緩やかな上昇を示した。これらが多胎（特に四胎以上）発生と減数手術施行件数のどちらの影響であるか，さらに詳細な調査と観察を継続してゆく必要がある。一般排卵誘発に関しては，FSH step up 法と FSH/GnRH pulse 法の有効性が明らかとなったので，一般臨床の場にフィードバックする必要がある。それにより多胎（特に四胎以上）の発生はかなり抑えることができると思われる。体外受精・胚移植における OHSS の発生は約 3 人にひとりと高率であり，これは日本産科婦人科学会の全国調査の結果とも概ね一致していた。その発生機序には IL-8 深く関与していると思われた。発症防止のためにこれを含めた原因物質の抑制による治療が，必須であると思われる。



厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）

分担研究報告書

卵巢過剰刺激症候群の発症防止に関する研究

－特に血管透過性亢進因子の制御による発症防止に関して－

（ 分担研究：生殖補助医療の安全性に関する研究 ）

分担研究者 寺尾俊彦 浜松医科大学医学部附属病院長

研究要旨；

卵巢過剰刺激症候群(OHSS)の原因因子の制御による発症防止に関して、内外の文献を検索・研究した。また動物実験により interleukin-8 (IL-8)が重要な原因因子のひとつであることを立証した。(1) 文献的研究：最近 33 年間の欧米および日本における主たる医学雑誌において、原因因子とされているもののうち histamine、prostaglandin、angiotensin を制御する試みが 8 文献報告されていた。しかし有効性に関してはいまだ確立されておらず、臨床応用されるまでには至っていなかった。(2) IL-8 投与による OHSS 様卵胞腫大の惹起に関する研究：1) IL-8 腹腔内投与；23 日令の未熟 Wistar rat に対し、pregnant mare serum gonadotropin 10 unit 腹腔内投与による過剰卵胞刺激を施行し、その 48 時間後に生理食塩水（生食）、human chorionic gonadotropin(hCG) 10 unit、IL-8 0.2, 2.0, 20 μ g を各々腹腔内投与した。その結果 hCG 投与群と IL-8 20 μ g 投与群において OHSS 様の卵胞腫大が認められた。メルコックス樹脂を注入した血管構築標本でも、腫大した卵胞を取り巻く著明に拡張した密な血管網、およびそれらの血管からの樹脂の漏出が認められた。2) IL-8 局所投与；無刺激の 7 週令成熟 Wistar rat に対し、左の卵巢には生食、右の卵巢には IL-8 0.1, 1.0, 10 μ g を各々卵巢被膜下に局注した。その結果 IL-8 の 10 μ g 投与群の投与側卵巢において OHSS 様の卵胞腫大が認められた。メルコックス樹脂を注入した血管構築標本でも、卵胞の腫大と著明に拡張した密な血管網が認められた。以上 1)2)の実験結果より、IL-8 は、過剰卵胞刺激後の卵巢に対して、その後の卵胞腫大現象を惹起する重要な原因因子のひとつであることが判明した。またその卵胞液貯留現象の作用機序は、卵胞血管の拡張および透過性亢進によることが推測された。

I. 原因因子の制御による卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) の発症防止に関する文献的研究

A. 研究目的

OHSS 発症の原因因子の制御の研究は、その発症病態生理学の研究と深い関連をもつ。

現在、OHSS の本態は血管透過性の異常亢進による高蛋白性（主に albumin）液性成分の血管外大量喪失であることが判明している。その血管透過性の異常亢進を惹起する因子は過排卵刺激（過剰卵胞刺激[hMG/FSH 刺激] + 黄体化刺激[hCG/LH 刺激]）によって腫大

した卵巣から産生・分泌される。現在のところ histamine、prostaglandins、renin-angiotensin system、interleukins、endothelin-1、vascular endothelial factor が注目されている。estrogen に関しては、その大量投与が OHSS を発生させ得ないことが証明されている。hCG に関しては、直接の因子というよりもむしろ上記 histamine 以下の因子の first messenger ではないかと考えられている。そこで、これらの因子の制御による OHSS 発症防止の試みについて、文献的に研究した。

B. 研究方法

- 1) 調査期間；1966 年より 1998 年まで
- 2) 調査方法；MEDLINE
- 3) 調査対象；欧米および日本における主たる医学雑誌。

C. 研究結果

Histamine

Knox, G. E., Dowd, A. J., Spiesel, S. A., Hong, R. (1975) Antihistamine blockade of the ovarian hyperstimulation syndrome, II : possible role of antigen-antibody complexes in the pathogenesis of the syndrome. *Fertil. Steril.*, 26, 418-421. [rabbit]

: antihistamine の投与は OHSS の速やかな改善を促した。

Erlik, Y., Naot, Y., Friedman, M. *et al.* (1979) Histamine levels in ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet. Gynecol.*, 53, 580-582. [rabbit]

: OHSS と対照群間の histamine level に差なし。

Pride, J., Ho, Y. I. (1990) The ovarian hyperstimulation syndrome. *Semin. Reprod. Endocrinol.*, 8, 247-253. [rabbit]

: H1 receptor blocker は腹水産生には防止効果があったが、卵巣腫大には無効であった。

Prostaglandin

Schenker, J. G., Polishuk, W. Z. (1976) The role of prostaglandins in ovarian hyperstimulation syndrome. *Euro. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 6, 47-52. [rabbit]

: indomethacin (prostaglandin 合成阻害剤) は、OHSS における血管内から腹水・胸水への水分移動を抑制する。

Pride, S. M., Yuen, B. H., Moon, Y. S., Leung, P. C. S. (1986) Relationship of gonadotropin-releasing hormone, danazol and prostaglandin blockade to ovarian enlargement and ascites formation of the ovarian hyperstimulation syndrome in the rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 154, 1155-1160. [rabbit]

: indomethacin は OHSS における腹水産生を抑制しなかった。

Katz, Z., Lancet, M., Borenstein, R., Chemke, J. (1984) Absence of teratogenicity of indomethacin in ovarian hyperstimulation syndrome. *Int. J. Fertil.*, 29, 186-188. [human]

: indomethacin は OHSS における腹水産生を抑制した。

Borenstein, R., Elchalal, U., Lunenfeld, B. *et al.* (1989) Severe ovarian hyperstimulation syndrome : a reevaluated therapeutic approach. *Fertil. Steril.*, 51, 791-795. [human]

: indomethacin は重症 OHSS における腹水産生を抑制しなかった。

Renin-angiotensin system

Morris, R. S., Wong, I. L., Kirkman, E. *et al.* (1995) Inhibition of ovarian-derived prorenin to angiotensin cascade in the treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod.*, 10, 1355-1358. [rabbit]

: angiotensin converting enzyme 阻害剤投与は OHSS の発生頻度を 40%減少させた。

Interleukins

試みられている治療法なし。

Endothelin-1

試みられている治療法なし。

Vascular endothelial growth factor

試みられている治療法なし。

D. 考察

生殖補助医療を行なうにあたって、その副作用として最も問題となるのは多胎の発生と OHSS である。特に OHSS は過排卵刺激（過剰卵胞刺激[hMG/FSH 刺激]+黄体化刺激[hCG/LH 刺激])をした場合には高頻度に発生し、重症の場合には生命の危険さえ伴う。ただし過剰卵胞刺激あるいは黄体化刺激のどちらか一方が欠ければ発症しないことが判明しているの、通常の排卵誘発の場合は対策を立てることが可能である。たとえば、卵胞刺激法を工夫して過剰な卵胞をつくらないようにすることや、過剰になった場合には hCG 投与を中止するという対策である。しかし体外受精・胚移植(IVF-ET)の場合の対策は容易ではない。なぜなら IVF-ET にとって過剰卵胞刺激と黄体化刺激は、良質の卵を複数

個得るためにはどちらも欠くことができないからである。よって IVF-ET の際、発生が予測される周期の OHSS 予防策としては、①過剰卵胞刺激完了後すぐに hCG 投与をせずに血中 estradiol 値が 3,000 pg/ml 以下に低下してから投与する (Coasting 法)、②その周期での妊娠を避ける全胚凍結保存法、③採卵時に予防的に albumin を投与する方法、等が試みられている。しかし、①に関しては卵の質が低下しないかという点でさらなる臨床的検討が必要であるし、②は OHSS の重症化をある程度防止できるが発生自体は防止できない、③は albumin の喪失は連日大量におこるため、採卵時だけの予防的投与だけでは有効性は期待できない。そこで、IVF-ET の際の OHSS を防止するためには、OHSS を引き起こす原因因子を抑えることが必要となってくる。原因因子としては前記のとおり histamine、prostaglandins、renin-angiotensin system、interleukins、endothelin-1、vascular endothelial factor が報告されている。しかし、それらを阻害する方法はあまり研究されていないのが現状であった。

E. 結論

現在のところ OHSS 原因因子の制御療法として研究されているものとして、antihistamine、H1 receptor blocker、indomethacin、angiotensin converting enzyme 阻害剤があった。しかし有効性に関してはいまだ確立されておらず、臨床応用されるまでには至っていない。

II. interleukin-8 (IL-8) 投与による OHSS 様卵胞腫大の惹起に関する研究

A. 研究目的

通常排卵時の卵胞では、以下の3つの生理学的反応が局所で起こる。つまり(1) 類炎症反応に引き続く血管透過性の亢進、(2) 蛋白分解酵素の活性化、(3) 神経活性物質による平滑筋の収縮作用、である。(1)により血管内血液から卵胞腔内に血清成分が急速に流入し、それにより卵胞は急速に膨張しようとする。(2)により血管壁の collagen 等の構成成分が融解され壁は非薄化する。

(3)により卵胞は収縮し卵胞内圧は急激に高まる。そしてその結果、卵胞は破裂し卵は卵胞外に排出される。通常 OHSS における腫大した卵胞は、非破裂黄体嚢胞であり、(1)の反応のみ進行し、(2) (3)の反応が起こらなかったものと考えられる。そこで我々は、類炎症反応に基づく血管透過性の亢進に関与する因子に注目した。

IL-8 は炎症反応における重要なメディエーターであり、近年毛細血管壁の構築を変化させることにより直接的に血管透過性亢進作用を表すことが示唆されている¹⁾。また、過排卵刺激後の顆粒膜黄体細胞や hCG を添加された卵巣間質細胞において、IL-8 の mRNA が発現し IL-8 が産生されることも報告されている²⁾。かつ OHSS の患者腹水中に高濃度の IL-8 が存在することも判明している³⁾。以上より OHSS の発症への IL-8 の関与が強く示唆されている。そこで今回我々は、IL-8 が OHSS 様卵胞腫大を惹起させうるかどうかを動物実験にて検討した。

B. 研究方法

使用した試薬：

pregnant mare serum gonadotropin(PMSG)
[Sigma 社]

human chorionic gonadotropin(hCG)
[持田製薬]

interleukin-8 (IL-8)
[東レ株式会社]

卵巣組織標本 : 1) 腹腔内投与群 ; 23 日令の未熟 Wistar rat に PMSG 10 unit を腹腔内投与し過剰卵胞刺激をした後、その 48 時間後に生理食塩水(生食)、hCG 10 unit, IL-8 0.2, 2.0, 20 μ g を各々腹腔内投与した。さらにその 6, 12 および 24 時間後の卵巣を摘出し、4%パラホルムアルデヒドで固定し連続切片を作成した。2) 局所投与群 ; 7 週令成熟 Wistar rat の背を 1 cm ほど切開し、左の卵巣には生食、右の卵巣には IL-8 0.1, 1.0, 10 μ g を卵巣被膜下に局注した。各々の卵巣を 6 および 24 時間後に摘出し、4%パラホルムアルデヒドで固定し切片を作成した。

卵巣血管構築 : 1) 腹腔内投与群 ; 卵巣腫大標本の 1) と同じ手法で、23 日令未熟 Wistar rat を、未刺激、過剰卵胞刺激(PMSG 10 unit)のみ、過剰卵胞刺激+黄体化刺激(hCG 10 unit)、過剰卵胞刺激+IL-8 20 μ g 投与の 4 群に分けた。2) 局所投与群 ; 卵巣腫大標本の 2) と同じ手法で、7 週令成熟 Wistar rat に、左の卵巣には生食、右の卵巣には IL-8 10 μ g を被膜下に局注した。腹腔内投与群の rat には、PMSG のみ投与群では投与 48 時間後、hCG または IL-8 投与群ではそれらの投与 6 時間後に、以下の処置を加えた。また局所投与群の rat には、hCG ま

たは IL-8 投与の 24 時間後に以下の処置を加えた。まず、ネンプタール麻酔下でヘパリンを投与し、動脈に注入用チューブを挿入した。チューブより生食を注入し、卵巣に流入することを確認後、重合加速剤を加えたメルコックス樹脂を注入し血管部分を硬化させた。硬化した卵巣を切り取り 10N NaOH 中で軟組織を腐食させた。標本を洗浄、乾燥後、金のスパッタコーティングをし、5-15 kV の低加速電圧で SEM 観察した。

卵の成熟度 : 卵胞腫大標本の 1) と同じ手法で 23 日令の未熟 Wistar rat を、過剰卵胞刺激(PMSG 10 unit)+黄体化刺激 (hCG 10 unit) , 過剰卵胞刺激+IL-8 20 μ g 投与の 2 群に分け、hCG 又は IL-8 投与直後および 10 時間後に卵巣を摘出し、4%パラホルムアルデヒドで固定した。それぞれ卵巣の連続切片を作成し、HE 染色後顕微鏡下で観察し、germinal vesicle break down(GVBD)をおこした卵の割合を算出した。

画像処理 : 卵胞面積は LUZEX III 画像処理装置を用いて解析した。

統計処理 : データは Statview 4.0 を用いて mean \pm SD を算出し、Student's t-test でそれらの値の有意差を検定した。p<0.05 を有意差ありと判定した。

C. 研究結果

結果は以下のごとくであった。

卵巣組織標本

1) 腹腔内投与群：過剰卵胞刺激をした未熟 Wistar rat では、6, 12, 24 すべての時間後において、hCG 投与群と IL-8 20 μ g 投与群

両者にて OHSS 様の卵胞腫大が認められた (Fig. 1 : 投与 6 時間後)。IL-8 0.2 μ g および 2.0 μ g 投与群においても、すべての時間後において用量依存性の軽度の卵胞腫大が認められた。

2) 局所投与群：卵胞刺激のない成熟 Wistar rat では、6 および 24 時間後ともに、IL-8 の 10 μ g 投与群において、投与側のみ OHSS 様の卵胞腫大が認められた。IL-8 0.1 μ g および 1.0 μ g 投与群においても、投与側に用量依存性の軽度の卵胞腫大が認められた。

卵胞面積

1) 腹腔内投与群の卵胞 1 個あたりの平均面積 ($\times 10^{-2}$ mm²) [mean \pm SD] [投与 6 時間後] 生食投与群は 5.9 \pm 1.1, hCG 投与群は 13.8 \pm 0.9, IL-8 0.2 μ g 投与群は 4.6 \pm 0.4, IL-8 2.0 μ g 投与群は 7.3 \pm 0.7, IL-8 20 μ g 投与群は 13.6 \pm 1.3, [投与 24 時間後]; 生食投与群は 3.6 \pm 0.9, hCG 投与群は 14.3 \pm 0.9, IL-8 0.2 μ g 投与群は 5.9 \pm 0.9, IL-8 2.0 μ g 投与群は 8.2 \pm 1.5, IL-8 20 μ g 投与群は 15.0 \pm 0.8, であり、数字的にも IL-8 20 μ g 投与群において、hCG 投与群と同様の卵胞面積の顕著な増大が証明された (Fig. 2)。投与 12 時間後においても、ほぼ同様の結果であった。

2) 局所投与群の卵胞 1 個あたりの平均面積 ($\times 10^{-2}$ mm²) [mean \pm SD] [投与 6 時間後]; IL-8 0.1 μ g 投与群：生食投与側 2.7 \pm 0.8, IL-8 投与側 2.8 \pm 1.2, IL-8 1.0 μ g 投与群：生食投与側 3.7 \pm 0.5, IL-8 投与側 3.9 \pm 0.9, IL-8 10 μ g 投与群：生食投与側 3.4 \pm 0.8, IL-8 投与側 6.1 \pm 1.5, [投与 24 時間後]; IL-8 10 μ g 投与群：生食投与側 3.7 \pm 0.9, IL-8 投与側 7.2 \pm 0.6 であった。数字的にも

IL-8 10 μ g 投与群において、有意な卵胞面積の増大が証明され、かつそれは時間がたつにつれてさらに高度となる傾向にあった (Fig. 3)。

卵巣血管構築

1) 腹腔内投与群：①未刺激群；卵胞腫大や血管拡張は認められなかった。②過剰卵胞刺激 (PMSG 10 unit 投与) のみ群；投与 48 時間後に軽度の卵胞腫大が認められ血管網は多層化していた。③過剰卵胞刺激+黄体化刺激 (hCG 10 unit 投与) 群；hCG 投与 6 時間後に卵胞はさらに著明に腫大し、周囲の多層化した血管網はさらに密となり各々の血管も著明に拡張していた。血管から樹脂の漏出も認められた。④過剰卵胞刺激+IL-8 20 μ g 投与群；IL-8 投与 6 時間後に hCG 投与群と同様の卵胞の腫大とそれらを取り巻く著明に拡張した密な血管網が認められた。血管からの樹脂の漏出も同様に認められた。

(Fig. 4；倍率 \times 40, Fig. 5；倍率 \times 70)

2) 局所投与群：同一個体のため、同一の注入圧での左右卵巣の血管拡張の比較が可能であった。投与 24 時間後に、生食投与側に比し、IL-8 投与側の卵巣は腫大し、かつそれらを取り巻く著明に拡張した密な血管網が認められた (Fig. 6)。

卵の成熟度

過剰卵胞刺激を施した未熟 Wistar rat に、hCG 10 unit、IL-8 20 μ g を各々投与した実験結果は下記のごとくであった。

[GVBD 卵の個数/全観察卵の個数；GVBD 卵の割合(%)]

① hCG 10 unit 投与群；投与直後 [1/51；2.0%]、投与 10 時間後 [52/63；82.5%]

② IL-8 20 μ g 投与群；投与直後 [1/51；2.0%]、投与 10 時間後 [14/54；25.9%]

D. 考察

今回の我々の実験により、過剰卵胞刺激+黄体化刺激 (hCG 投与) 時と同様の OHSS 様腫大を、過剰卵胞刺激+IL-8 投与においても惹起させることが可能なことが判明した。しかし卵の成熟においては前者に比し後者では著しく不良であった。

最近、Abramov³⁾ らは、重症 OHSS 患者の血清中の IL-8 濃度はすべて低値であったが、腹水中の濃度はすべて高値であったと報告しており、腹水中の IL-8 は卵巣からの直接の漏出であると結論づけている。また Arici²⁾ らによれば、hCG 刺激により卵巣間質細胞において IL-8 の mRNA が産生されることも確認されている。よって、OHSS においては、IL-8 は hCG (LH) の second messenger として、卵巣局所で産生され、卵胞腫大現象に関与するものと考えられた。そして卵巣血管構築標本実験では、過剰卵胞刺激+IL-8 投与群に、過剰卵胞刺激+hCG 投与群と同等の血管拡張および血管透過性亢進の推測される所見が認められている。本実験結果より、IL-8 の卵胞液貯留現象における作用機序は、卵胞血管の拡張および透過性亢進による血清成分の卵胞内移動と考えられた。この機序は腹水貯留現象においても同様と思われる。

E. 結論

IL-8 は、過剰卵胞刺激後の卵巣に対して、卵の成熟に関しては hCG 様の作用はほとんどないが、卵胞腫大現象および血管透過性亢進現象に関しては hCG と同等の作用を持つ

ことが判明した。今後は IL-8 の抑制を中心に、卵の成熟に影響を与えることのない OHSS 予防策を研究していく方針である。

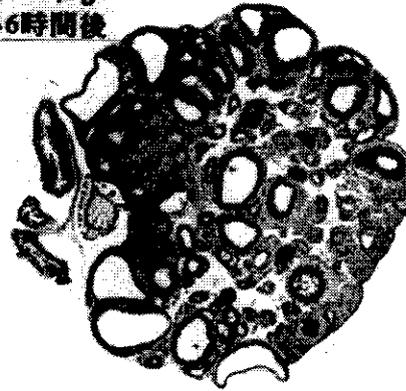
F. 参考文献

- 1) Fukumoto, T., Matsukawa, A., Yoshimura, T. *et al.* (1998) IL-8 is an essential mediator of the increased delayed-phase vascular permeability in LPS-induced rabbit pleurisy. *J. Leuko. Bio.*, 63, 584-590.
- 2) Arici, A., Oral, E., Bukulmez, O. *et al.* (1996) Interleukin-8 expression and modulation in human preovulatory follicles and ovarian cells. *Endocrinology*, 9, 3762-3769.
- 3) Abromov, Y., Schenker, J. G., Lewin, A. *et al.* (1996) Plasma inflammatory cytokines correlate to the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod.*, 11, 1381-1386.

A 生食対照群



C IL-8 20 μ g
投与6時間後



B hCG 10u
投与6時間後

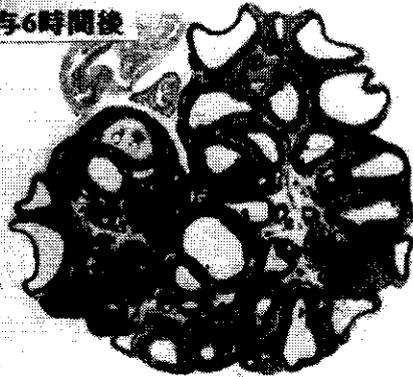


Fig.1 過剰卵胞刺激+生食/hCG/IL-8
投与後の卵巣組織標本

A ; 生食対照群

B ; hCG 10unit(u) 投与6時間後

C ; IL-8 20 μ g 投与6時間後

過剰卵胞刺激をした未熟Wistar rat では、
hCG投与群とIL-8 20 μ g投与群両者に
おいて、ほぼ同様にOHSS様の卵胞腫大像
が認められる。

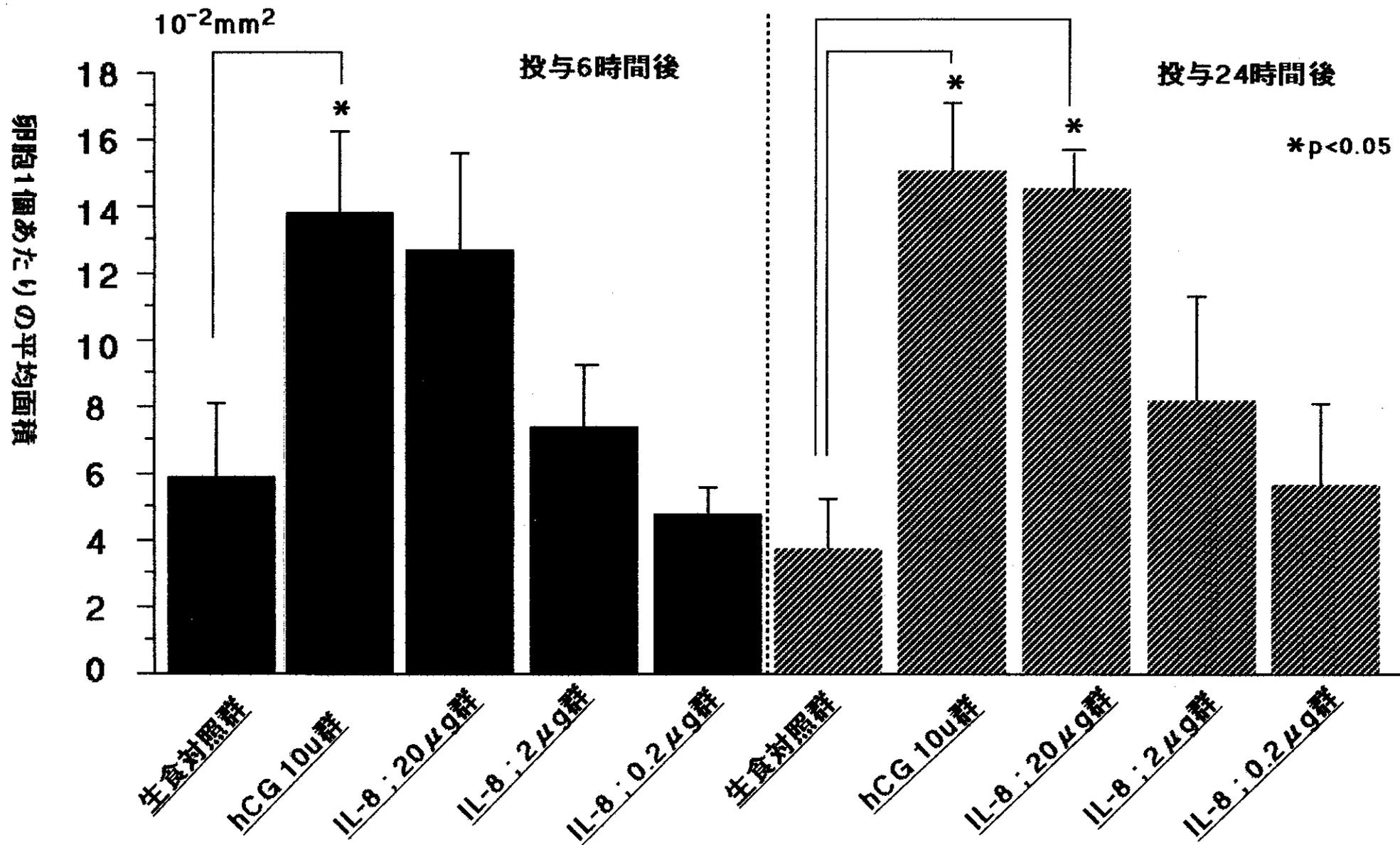


Fig.2 hCGまたはIL-8腹腔内投与群における卵胞1個あたりの平均面積比較

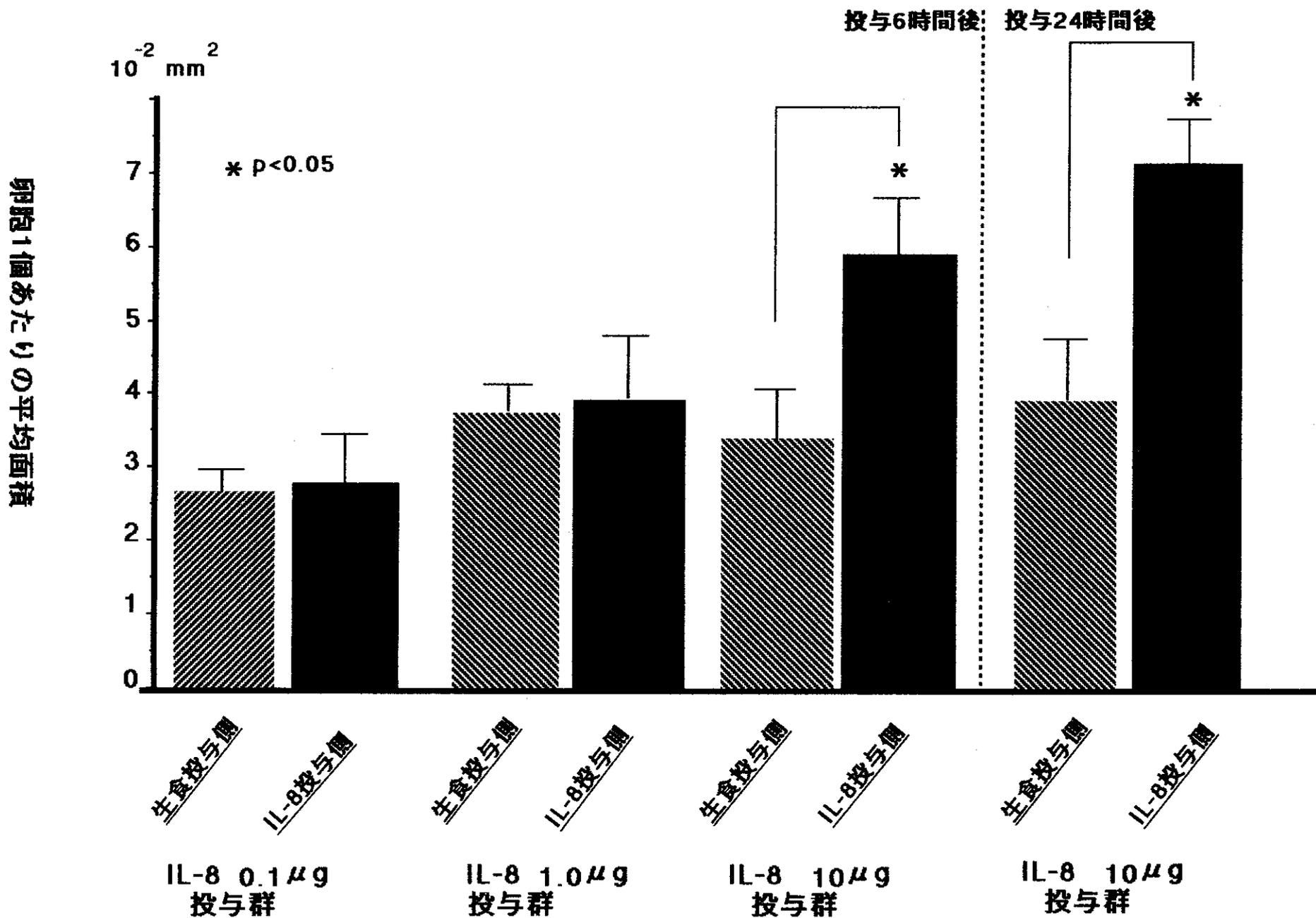


Fig.3 IL-8局所投与群における卵胞1個あたりの卵胞面積比較



未刺激



PMSG ip



hCG ip



IL-8 ip

Fig.4 過剰卵胞刺激(PMSG投与)+hCG/IL-8腹腔内投与時の未成熟ratの卵巣血管構築(X40)

- 左上；未刺激群：卵胞腫大や血管拡張は認められない。
- 右上；過剰卵胞刺激のみ群(PMSG 10u 投与後48時間)
：卵胞腫大が認められ、周囲の血管網は未刺激群に比し多層化している。
- 左下；過剰卵胞刺激+hCG 10unit投与群（投与後6時間）
：卵胞はさらに著明に腫大し、周囲の多層化した血管網はさらに密となり、各々の血管も著明に拡張している。
- 右下；過剰卵胞刺激+IL-8 20 μ g投与群（投与後6時間）
：hCG投与群と同様の卵胞腫大、およびそれを取り巻く著明に拡張した密な血管網が認められる。

未成熟ratの血管構築

X70



hCG ip



IL-8 ip

Fig.5 過剰卵胞刺激(PMSG投与)
+hCG/IL-8腹腔内投与後の
未成熟ratの卵巣血管構築
；拡大図(X70)

- 左；過剰卵胞刺激+hCG 10unit 投与群：
著明に拡張した卵胞周囲血管網が
認められ、血管からの樹脂の漏出像
が観察できる（投与後6時間）。
- 右；過剰卵胞刺激+IL-8 20 μ g投与群：
hCG投与群とほぼ同様の所見を見る
ことが出来る（投与後6時間）。

血管構築の比較 (7W Rat IL8 局注)

NS

IL-8



Fig.6 hCG/IL-8局所投与時の成熟ratの
卵巣血管構築

左; 生食投与側 (投与後24時間)

右; IL-8 10 μ g投与側 (同上)

生食投与側に比しIL-8投与側の卵胞は多数腫大し、かつそれらを取り巻く著明に拡張した密な血管網が認められる。

多胎妊娠の疫学—本邦における多胎児の出産率、周産期死亡率と乳児死亡率の年次推移並びにこれら死亡率に影響を及ぼす要因—（分担研究：生殖補助医療の安全性に関する研究）

研究協力者：国立社会保障・人口問題研究所 今泉洋子

研究要旨： 1951～1968年と1974～1997年にわたり、日本全国の人口動態統計から得られた多胎出産(出生と死産)資料を用いて多胎の種類別出産率、周産期死亡率、乳児死亡率を調べた。不妊治療のふたごへの影響は1986年までは小さいが、翌年から上昇し続けている。自然状態では二卵性ふたごは一卵性ふたご出産率の半分であるが、1997年には逆転し二卵性の方が一卵性ふたごより多く出産している。三つ子出産率は1974年から上昇をはじめ、1985年以降は急上昇しているが、1994年に最高値を示した後、横這いか僅かに減少傾向を示している。四つ子出産率は1985年以降急上昇し、1994年に最高値(百万出産あたり26.7)を示した後、1996年に6.4と1/4まで低下したが、1997年には再び12.2と上昇している。なお、この値は1989～1990年(11～13)の水準まで低下している。単胎児の周産期死亡率に対し、ふたごは5～6倍、三つ子は8～14倍も危険率が高いことが明らかになった。同じく、単胎児の乳児死亡率に対し、ふたごは5倍、三つ子は13倍の危険率が得られた。ふたごと三つ子の乳児死亡率は20年ぶりに得られた。

A. 研究目的

日本全国の多胎の種類別出産率、周産期死亡率、乳児死亡率の動向を明らかにすると共に、多胎児の単胎児に対する危険率の算定を行うことである。また、これら死亡率に影響を及ぼす要因を明らかにする。

B. 研究方法

多胎出産率の分析をおこなうために、1951～1968年と1974～1997年における日本全国の人口動態統計から得られた多胎出産(出生と死産)資料を用いた。1995～1997年の卵性別ふたご出産数は出生票と死産票の原テープから作成されたコピーテープを用いて分析を行った。周産期死亡率の分析に用いた多胎の資料は、1980年～1997年、乳児死亡率の分析は1995年～1997年の資料を用いた。これら死亡率の研究は死亡票と死産票の原テープから作成されたコピーテープを用いて分析を行った。

C. 研究結果

1. わが国の多胎出産率の年次推移

多胎の種類別出産率を計算するのに、分母は全出産数(出生数と死産数)、分子は多胎の種類別多胎組数(出生と死産を含む)を用いて計算をおこなった。

1. ふたご出産率

表1と図1は1951～1968年と1974～1997年のふたご出産率の年次推移を示している。ふたご出産率は1951年に出産千あたり6.4から1968年の6.1と年次に対し横這いであるが、1974～1976年の3年間は5.8前後と僅かに減少し、1977年には6.2と上昇、その後も僅かながら上昇するが1987年(6.6)以降急上昇し、1997年には9.0に達している。

図2は卵性別ふたご出産率の動向を示している。一卵性ふたご出産率は年次に対し横這い傾向にあるが、二卵性ふたご出産率は1987年以降上昇している。1975年には二卵性ふたごが一卵性ふたごの半分であったのが、1996年には等しくなり、翌年の1997年には二卵性ふたごの方が一卵性ふたごより高い値が得られている。したがって、二卵性ふたごの頻度は不妊治療が行われる以前の値に比べ、1996年

以降は倍増したことになる。

2. 三つ子出産率

表1と図1は1951～1968年と1974～1997年の三つ子出産率の年次推移を示している。三つ子出産率は1951年の58(出産百万対)から1968年まで横這い傾向、同じく1974年も58と同じ値を示すが、翌年の1975年には66に上昇、その後も1980年まで徐々に上昇し、1981年には96と急上昇、さらに1982年には104と最高値を示すが、その後4年間は僅かに減少に転じる。しかし、1987年の109から再び上昇を続け1994年には275まで上昇、翌年の値は前年と同じに留まったが、1996年以降は減少し1997年の値は258と減少傾向がみられる。

3. 四つ子の出産率

表1と図1から四つ子出産率は1951年に百万出産あたり0から1968年に0.5と横這い傾向にある。ところが1974年には3.3と上昇、翌年の1975年にはさらに7.5と2倍以上になるが、その後1984年まで減少し、1985年には再び8.0と急上昇し、その後も上昇を続け1993年(17.2)には上昇が止ったかにみえたが、翌年の1994年には26.7と急上昇するが、1995年には24.5と僅かに減少、1996年には6.4と1/4まで低下しているが、翌年の1997年には12.2と倍増している。しかしながら、この値は1989～1990年(11～13)の水準まで低下している。

4. 五つ子の出産率

五つ子出産率は1974～1980年には百万出産あたり0.84(11組)、1981～1987年は0.65(7組)と横這い傾向にあるが、1988～1992年には2.3(15組)と上昇、1993～1997年には2.1(13組)と僅かに減少している。なお、最新年次の値は1974～1980年の値の2.5倍も上昇している。

5. 三つ子以上の多胎出産率

表1に三つ子以上の多胎出産率の年次推移を示している。三つ子以上の多胎出産率の計算に用いた分子は三つ子以上の多胎分娩数である。三つ子以上の多胎出産率(出産百万対)は、1951～1968年までは横這い(平均値は63)傾向にあるが、1974年(62)から1980年(80)まで徐々に上昇し、その後1982年(110)まで急上昇するが、1983～1984年(90-94)は減少、翌年(96)から再び上昇し1988年(118)以降は急上昇し、1994年～1995年には302-304に達するが、翌年以降は265-271と減少している。

6. 卵性別ふたご出産率の地域格差

図3と表2は1993～1997年の卵性別ふたご出産率の地域格差を示している。一卵性ふたご出産率は全ての県で同程度の値を示しているが、二卵性ふたご出産率は県間格差が大きいことがわかる。二卵性ふたご出産率が一番高い県は新潟県(出産千あたり6.1)、次が石川県(6.0)、栃木県・鳥取県(5.6)の順である。一方、一番低い値は北海道(3.1)である。

1986～1994年の県別、卵性別ふたご出産率は今泉・野中¹⁾から得られるので、1995～1997年の値のみを表3に示している。これらの値から、典型的な8県を選び、各県の卵性別ふたご出産率の年次推移を図4に示している。北海道の二卵性ふたご出産率は年次に対し緩やかな上昇傾向を示しているが、一卵性ふたご出産率に比べ、かなり低い値を示している。栃木県や新潟県の二卵性ふたご出産率は1986年以降3倍も上昇したことになる。東京都と大阪府の卵性別ふたご出産率は全国の値(図2)と同じ傾向を示している。

7. 卵性別ふたご出産率と母年齢

図5は1986年と1995～1997年における卵性別ふたご出産率と母年齢の関係を示している。一卵性ふたご出産率は母年齢に対し横這い傾向にあるが、二卵性ふたごでは母年齢とともに35～39歳まで上昇するが40歳以上で減少している。両年

次群格差は 35～39 歳で一番高く 2.5 倍、40 歳以上で 2.4 倍、30～34 歳で 2.1 倍と高い。30 歳以上で二卵性ふたご出産率が高いのは、これらの年齢群で特に不妊治療を受けているからである。一方、一卵性ふたご出産率も最新年次でやや高いことがわかる。Derom ら²⁾は体外受精後に、一卵性ふたご出産率の上昇を報告している。

II. 多胎児の周産期死亡率

1950 年～1994 年までわが国の周産期死亡数は妊娠 28 週以降の死産数と早期新生児死亡数の合計であったが、1995 年以降は妊娠 28 週以降から 22 週以降の死産数に変更された。そこで、1980 年から 1994 年についての周産期死亡数は妊娠 28 週以降の死産数から妊娠 22 週以降の死産数に変更して周産期死亡数の修正を行った。なお、妊娠 28 週以降の死産数を用いた周産期死亡率の単胎児と多胎児分析については Imaizumi³⁾を参照されたい。

1. 周産期死亡率の年次推移

図 6 は単胎児、ふたご、三つ子の周産期死亡率の年次推移を示している。ふたご周産期死亡率は単胎児の値に比べ全年次を通し 4.5～6.2 倍も高いことがわかる。同様に、三つ子周産期死亡率も単胎児の値に比べ 7.6～14 倍も高い。

2. 妊娠 22 週以降の死産比

表 4 は単胎児、ふたご、三つ子における妊娠 22 週以後の死産比の年次推移を示している。ふたごの死産比は単胎児の値に比べ全年次を通し 4.1～5.9 倍も高いことがわかる。同様に、三つ子の死産比も単胎児の値に比べ 10 倍前後も高いことがわかる。単胎児とふたごの死産比は過去 17 年間で 1/3 以下、三つ子は 1/4 まで低下している。

3. 早期新生児死亡率

表 4 は単胎児、ふたご、三つ子の早期新生児死亡率の年次推移を示している。

ふたごの早期死亡率は単胎児の値に比べ全年次を通し 5.7～8.2 倍も高いことがわかる。同様に、三つ子の早期新生児死亡率も単胎児の値に比べ 20 倍近くも高い。なお、単胎児とふたごの早期新生児死亡率は過去 17 年間で 1/3 以下、三つ子は 1/4 まで低下している。

III. 単胎、ふたご、三つ子の乳児死亡率

わが国における多胎児の乳児死亡率は 1974～1975 年の値しかない⁴⁻⁵⁾。本報告は 1995～1997 年の人口動態統計を用い、ふたごと三つ子の乳児死亡率に性別と出生時体重がどのような影響を及ぼすかを検討した。また、単胎児と多胎児の乳児死亡率比較も行った。なお、1995～1997 年における乳児死亡全体の 7%は単胎児か多胎児かは不詳である為、不詳分を取り除き分析を行った。

1. 死亡時期

図 7 は乳児死亡をした時期を示している。生後 1 日以内の死亡割合は単胎児が 21%、ふたごが 28%、三つ子が 28%と単・多胎で差異が見られないが、1 ヶ月以内（新生児）の死亡割合はふたごと三つ子の値はそれぞれ 75%と 77%と高いが、単胎児では 54%と低い値を示している。すなわち、全乳児死亡のうち、生後 1 ヶ月で多胎児の 4 分の 3、単胎児の半分は死亡していることになる。

2. 年次比較と性別

図 8 は単胎児、ふたご並びに三つ子の乳児死亡率の年次比較を示している。単胎児とふたごの乳児死亡率は年次とともに減少しているが、三つ子の乳児死亡率は減少傾向がみられない。

単胎児の乳児死亡は男子が 0.36%、女子が 0.31%、ふたごのそれぞれの値は 1.9%、女子が 1.6%で男子の方が女子より有意に高い値が得られた（図 8）。三つ子のそれぞれの値は 4.8%と 3.8%と男子の方が女子の値より高い値が得られたが、統計的

には有意水準には達していない。単胎児の乳児死亡率に対し、ふたごは 5 倍、三つ子は 13 倍の危険率が得られた。

3. 出生時体重

表 5 は単胎児、ふたご、三つ子の乳児死亡率を出生時体重別に示している。

a. ふたご

出生時体重別にふたごの乳児死亡率をみると 500g 未満での死亡率は出生千あたり 888 から、500~699g での値は 557 と半減し、1000~1299g では 86 と 500g 未満の値の 1/10 以下まで低下している。一番死亡率が低いふたごの体重は 2800~3099g (3.3) であり、これらの体重でのふたごの乳児死亡率は単胎児全体の値 (3.2) と同程度である。

b. 単胎児と多胎児の比較

単胎児、ふたご、三つ子の乳児死亡率を出生時体重別に比較をすると、500g 未満では三つ子の乳児死亡率が一番高く (960)、次がふたご、一番低い値は単胎児 (808) であった。一方、500~1000g での乳児死亡率は三つ子で一番低い値 (244~329) が得られた。1000~2499g では単胎児が一番高く、中間はふたご、三つ子で一番低い値が得られたが、2500g 以上では逆に、三つ子で一番高い値 (16) が得られている。単胎児と多胎児の死亡率格差が一番高い体重区分は、ふたごの体重が 3500g では 7.6 倍、三つ子では 2500g 以上で 7.2 倍も高い値が得られた。一方、体重が 1000~2499g まではふたご、三つ子より単胎児の方が 1.5~6.1 倍も高い乳児死亡率を示している。乳児死亡率が一番低い体重をみると、単胎児は 3000~3499g、ふたごは 2500~2999g、三つ子は 2000~2499g であった。

D. 考察

ふたご出産率は 1987 年以降上昇を続けているが、この上昇は二卵性ふたご出産率の上昇である。しかし、最近における一卵性ふたご出産率も僅かながら上昇

している。前者の上昇は排卵誘発剤の影響であり、後者は体外受精の影響²⁾ である。三つ子出産率は 1975 年以降上昇し、1994 年には百万出産あたり 275 まで上昇したが、翌年以降は僅かに減少傾向を示し 1997 年の値は 258 と減少している。四つ子出産率は 1974 年以降上昇し 1994 年には百万出産あたり 26.7 と最高値を示すが、1995 年以降は減少傾向を示し、1997 年の値は 12.2 まで減少する。なお、この値は 1989~1990 年(11~13) の水準まで低下している。1995 年以降三つ子以上(スーパツイン) の多胎出産率は僅かに減少傾向を示している。これらスーパツイン出産率の減少傾向は減数手術によるものか、日本産科婦人科学会が 1996 年 2 月に多胎妊娠を予防するための会告を出した結果によるのかは、現在のところ明らかではない。

多胎児の単胎児に対する周産期死亡率と乳児死亡率の危険率を算定した。ふたご周産期死亡率は単胎児の値に比べ 4.5~6.2 倍、三つ子の単胎児に対する危険率は 7.6~14 倍も高いことが明らかになった。単胎児の乳児死亡率に対し、ふたごは 5 倍、三つ子は 13 倍の危険率が得られた。

単胎児とふたごの死産比と早期新生児死亡率は過去 17 年間で 1/3、三つ子は 1/4 まで低下している。わが国における 1974~1975 年のふたごと三つ子の乳児死亡率(出生千対) はそれぞれ 47.1 と 95.7 である^{4,5)}。一方、20 年後の 1995~1997 年におけるそれぞれの値は 17.1 と 42.7 であるから、20 年間にふたごは 63%、三つ子は 55% 減少したことになる。これら死亡率が急速に減少したのは周産期医療の進歩や、妊娠中の多胎児管理の向上などが挙げられるが、出産時体重の側面からみれば、まだ死亡率は減少すると思われる。

文献

- 1) 今泉洋子、野中浩一、「多胎妊娠の疫学—本邦における卵性別ふたごと多胎出産率の年次推移と地域格差—」,平成 8 年度厚生省心身障害研究『不妊治療の在り方に関する研究』,pp.70-92,1997 年.
- 2) Derom C., Derome R., Vlietinck R., Van den Berghe H., Thiery M. Increased Monozygotic twinning rate after Ovulation induction. *Lancet* ,i,1236-38,1987.
- 3) Imaizumi Y. Perinatal mortality in single and multiple births in Japan, 1980-1991. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* , 8, 205-215,1994..
- 4) Imaizumi Y, Inouye E, and Akio A. Mortality rate of Japanese twins : Infant deaths of twins after birth to one year of age. *Social Biology* 28:176-186,1981.
- 5) Imaizumi Y, Inouye E, and Akio A. Mortality rate of Japanese twins and triplets. III. Infant deaths of triplets after birth to one year of age. *Acta Genet Med Gemellol* 30: 281-284,1981.

F. 研究発表

1.論文発表

Imaizumi, Y. Trends of twinning rates in ten countries, 1972-1996. *Acta Genet Med Gemellol* 46:209-218, 1997.

Imaizumi, Y. Secular changes in stillbirth rates of zygotic twins in Japan, 1975-1994. *Acta Genet Med Gemellol* 47:19- ,1998.

Imaizumi, Y. Constant multiple birth rates in the Czech Republic and Slovak Republic, 1972-1995. *Twin Research* 2: ,1999

今泉洋子「わが国の多胎の動向および諸外国との比較」、『日本双生児研究学会

ニューズレター』第 24 号、17-27、1998.

今泉洋子「多胎出産の疫学」、『図説産婦人科 VIEW—35: 多胎妊娠—その問題点と管理の指針—』(池ノ上克、中野仁雄・編) 1998, pp.10-18 メジカルビュー社

2.学会発表

Imaizumi, Y. Trends of twinning and triplet rates in 17 countries during the period from 1972 to 1996. Th 9th International Congress on Twin Studies. 5th June, 1998 in Helsinki.

今泉洋子「国勢調査を用いた 15 歳以下の多胎児数の推計」、第 9 回日本疫学学会、1999 年 1 月 22 日、名古屋市

今泉洋子、「本邦におけるふたごと三つ子の乳児死亡率について、1995～1996 年」、日本双生児研究学会第 13 回学術講演会、1999 年 1 月 23 日、東京